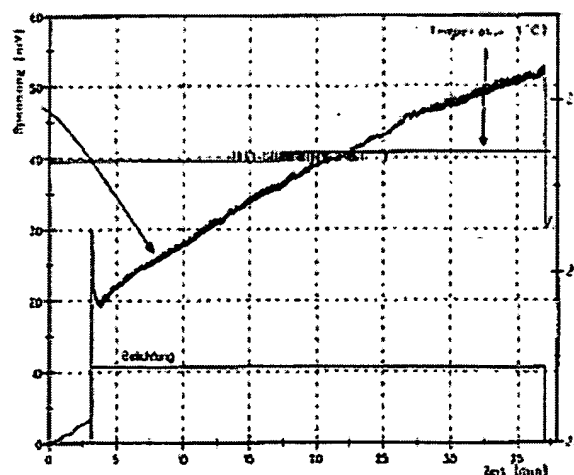


**Electromagnetic radiation bio-sensor mfr.****Publication number:** DE4437023**Publication date:** 1996-02-08**Inventor:** GRUBER RONALD (DE); BECKMANN DIETER DIPL  
PHYS (DE); MUELLER ADRIAN DIPL ING (DE);  
KLINGEBIEL URSEL (DE)**Applicant:** INST BIOPROZESS ANALYSENMESST (DE)**Classification:****- international:** C12Q1/00; H01L51/30; C12Q1/00; H01L51/05; (IPC1-  
7): G01J1/42; G01N21/75; G01N27/327; H01L31/08;  
H01L51/30**- european:** H01L51/42; C12Q1/00B4; H01L51/00M14; Y01N4/00**Application number:** DE19944437023 19941008**Priority number(s):** DE19944437023 19941008**Also published as:**

EP0706228 (A1)

**Report a data error here****Abstract of DE4437023**

The bio-sensor for detecting electromagnetic radiation is provided by applying a suspension containing a radiation-sensitive biological material to a porous carrier material, with subsequent removal of the suspension soln. before sandwiching the carrier between a pair of cooperating electrodes. At least one of these electrodes is transparent to the electromagnetic radiation to be detected. Pref. the suspension soln. is absorbed by the carrier material, to leave a thin layer of the radiation-sensitive biological material, e.g. a bacteriorhodopsin layer applied to the surface of a membrane.



Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide



19 BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENTAMT

12 Patentschrift  
10 DE 44 37 023 C 1

51 Int. Cl.<sup>6</sup>:  
G 01 J 1/42  
G 01 N 21/75  
G 01 N 27/327  
H 01 L 51/30  
H 01 L 31/08

21 Aktenzeichen: P 44 37 023.7-52  
22 Anmeldetag: 8. 10. 94  
43 Offenlegungstag: —  
45 Veröffentlichungstag  
der Patenterteilung: 8. 2. 96

DE 44 37 023 C 1

Innerhalb von 3 Monaten nach Veröffentlichung der Erteilung kann Einspruch erhoben werden

73 Patentinhaber:

Institut für Bioprozeß- und Analysenmeßtechnik  
e.V., 37308 Heilbad Heiligenstadt, DE

74 Vertreter:

Maikowski & Ninnemann, Pat.-Anw., 10707 Berlin

72 Erfinder:

Gruber, Ronald, Dipl.-Biochem., 37308 Geisleden,  
DE; Beckmann, Dieter, Dipl.-Phys., 37308  
Heiligenstadt, DE; Müller, Adrian, Dipl.-Ing., 37308  
Heiligenstadt, DE; Klingebiel, Ursel, 37308  
Heiligenstadt, DE

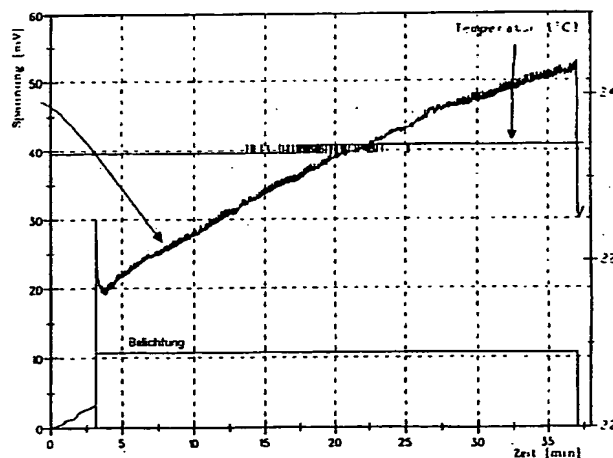
56 Für die Beurteilung der Patentfähigkeit  
in Betracht gezogene Druckschriften:

DE 42 24 602 C1  
DE 42 24 603 A1  
EP 04 17 541 A2

JP 4-262583 (A), in: Patent Abstracts of Japan, Sect.  
E, Vol. 17, No. 47 (E-1313);  
JP 63-241432 (A), in: Patent Abstracts of Japan, Sect.  
P, Vol. 13, No. 47 (P-822);

54 Verfahren zur Herstellung eines Bio-Sensors für elektromagnetische Strahlung

57 Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung eines Bio-Sensors für elektromagnetische Strahlung. Erfindungsgemäß wird eine Suspension eines strahlungsempfindlichen biologischen Materials auf eine poröse Membran aufgebracht. Anschließend wird dieser Anordnung das Lösungsmittel entzogen und diese Anordnung wird dann zwischen zwei flächige Elektroden gebracht, von denen mindestens eine für elektromagnetische Strahlung durchlässig ist. Als Membran wird vorzugsweise eine Kernspurmembran verwendet. Bei Anwendung dieses Verfahrens liegt im Gegensatz zu bekannten Präparationen das strahlungsempfindliche biologische Material auf der Oberfläche oder in Poren einer Membran vor. Damit ist keine chemische Präparation und keine Ausrichtung in einem elektrischen oder magnetischen Feld erforderlich.



DE 44 37 023 C 1

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung eines Bio-Sensors für elektromagnetische Strahlung nach dem Oberbegriff des Anspruchs 1.

Bio-Sensoren für elektromagnetische Strahlung sind bekannt. Sie enthalten in der Regel photoempfindliches biologisches Material, das orientiert auf einem Substrat aufgebracht ist.

Es ist eine bioelektrische Anordnung bekannt, bei der ein photoempfindliches Protein in einer Membran orientiert eingeschlossen und auf einem Substrat aufgebracht ist. Zur Stabilisierung der orientiert angeordneten Moleküle ist diese mit einem Polymer-Film bedeckt (JP 63-241432 A).

Weiterhin ist eine Anordnung bekannt, bei der die orientierten Membranmoleküle durch Zusatz bestimmter Substanzen und mit Hilfe bestimmter Verfahren, wie z. B. der Elektrophorese, miteinander vernetzt werden (EP 0 417 541 A2). In diesem Fall sind die Membranen, die aus einer Proteinschicht oder mehreren Proteinschichten bestehen können, ohne eine besondere Abdeckung stabil.

Der Nachteil dieser Anordnungen besteht darin, daß die Orientierung der Proteinmoleküle nur mit Hilfe besonderer Vorrichtungen und Verfahren möglich ist. Nachteilig wirkt sich auch aus, daß das verwendete biologische Material in hochgereinigter Form vorliegen muß.

Weiterhin ist es bekannt, als strahlungsempfindliches biologisches Material rhodopsinhaltige Mikroorganismen oder Zellen zu verwenden (DE 42 24 602 C1). Die letztgenannte Anordnung weist gegenüber den vorgenannten den Vorteil auf, daß der gleiche strahlungstechnische Effekt ohne zusätzliche Maßnahmen zur Orientierung der Moleküle erreicht wird.

Der gleiche Vorteil wird dadurch erzielt, daß in einem lyotropen Flüssigkristall eingebettetes strahlungsempfindliches biologisches Material verwendet wird (DE 42 24 603 A1).

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, Orientierung und Stabilisierung von strahlungsempfindlichem biologischen Material weiter zu vereinfachen.

Erfindungsgemäß wird das entsprechend den kennzeichnenden Merkmalen des Anspruchs 1 erreicht.

Bei einem Verfahren zur Herstellung eines Bio-Sensors für elektromagnetische Strahlung wird erfindungsgemäß eine Suspension eines strahlungsempfindlichen biologischen Materials auf ein poröses Trägermaterial aufgebracht. Anschließend wird dieser Anordnung das Lösungsmittel entzogen und sie wird zwischen zwei flächige Elektroden gebracht, von denen mindestens eine für elektromagnetische Strahlung durchlässig ist.

Bei Anwendung dieses Verfahrens liegt im Gegensatz zu bekannten Präparationen das strahlungsempfindliche biologische Material auf der Oberfläche oder in Poren einer Membran vor. Damit ist keine chemische Präparation und keine Ausrichtung in einem elektrischen oder magnetischen Feld erforderlich.

In einer Ausführungsform wird das Lösungsmittel durch das poröse Material abgesaugt.

Bevorzugt wird als poröses Trägermaterial eine Kernspurmembraan verwendet.

Zusätzlich kann das strahlungsempfindliche biologische Material nach Entzug des Lösungsmittels in einen Flüssigkristall eingebracht werden. Dieses Präparat wird anschließend als dünne Schicht auf die Membran aufgebracht. Damit ist es möglich, eine größere Menge

des strahlungsempfindlichen biologischen Materials einzubringen, wodurch eine Verstärkung des Meßeffectes erreicht wird. Im Gegensatz dazu würde das Aufbringen mehrerer Schichten auf ein Trägermaterial ohne Einschluß in einen Flüssigkristall den Meßeffect verringern, da weitere Schichten durch fehlenden Kontakt zum Trägermaterial keine Vorzugsrichtung mehr aufweisen. Der Vorteil dieser Anordnung besteht außerdem darin, daß das strahlungsempfindliche biologische Material vor äußerem chemischen oder biologischen Einfluß geschützt ist.

Die Komponenten des strahlungsempfindlichen biologischen Materials und des Flüssigkristalls werden mit der Membran in Kontakt gebracht. Nach Ausbildung des Flüssigkristalls auf der Oberfläche und in den Poren der Membran wird die so entstandene Anordnung zwischen die Elektroden gebracht.

Als strahlungsempfindliches biologisches Material wird vorzugsweise Bakteriorhodopsin verwendet.

Die Erfindung soll in einem Ausführungsbeispiel erläutert werden.

Die Fig. 1 und 2 zeigen die Meßergebnisse mit Sensoren, die nach dem nachfolgend beschriebenen erfindungsgemäßen Verfahren hergestellt wurden.

Eine Bakteriorhodopsinlösung wird in einer Menge von 1 mg/cm<sup>2</sup> auf eine Kernspurmembraan aufgebracht. Die Kernspurmembraan weist eine Dicke von 10 µm, eine Porengröße von 200 nm sowie 5 Mio Poren/cm<sup>2</sup> auf.

Durch das Ansaugen mit einer Vakuumpumpe von der Gegenseite der Kernspurmembraan wird das Bakteriorhodopsin auf der Oberfläche der Membran und in den Poren abgelagert. Das Lösungsmittel wird senkrecht zur Membran durchgesaugt und abgeführt. Es entsteht eine zusammenhängende Bakteriorhodopsinschicht auf der Membranoberfläche, die in die Poren übergeht.

Zur Kontaktierung wird die präparierte Membran zwischen zwei Glasplatten gebracht, die mit leitfähigem Indium-Zinn-Oxid transparent beschichtet sind.

Zum Nachweis des bioelektrischen Effekts wurde an die leitfähigen Schichten ein hochohmiger Meßverstärker ( $R_e = 10^{12}$  Ohm) angeschlossen. Zur Belichtung wurde eine 75 W-Xenon-Bogenlampe verwendet. Die Wärmestrahlung wurde mit einem Reflexionsfilter ausgeblendet. Die Übertragung zur Probe erfolgte mit einem Flüssigkristall-Lichtleitkabel (Durchmesser 3 mm, Länge 1,7 m). Das Lichtleitkabel wurde so auf die Membran gerichtet, daß der Bakteriorhodopsinfilm auf der Membran gleichmäßig ausgeleuchtet wurde.

Mit dieser Meßanordnung wurde das in der Fig. 1 dargestellte impulsförmige Signal erzeugt. Hierbei erfolgte die Belichtung ebenfalls impulsförmig.

Das in Fig. 2 dargestellte Signal erhält man bei Dauerbeleuchtung.

## Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung eines Bio-Sensors für elektromagnetische Strahlung, dadurch gekennzeichnet, daß eine Suspension eines strahlungsempfindlichen biologischen Materials auf ein poröses Trägermaterial aufgebracht wird, daß anschließend dieser Anordnung das Lösungsmittel entzogen und daß diese Anordnung zwischen zwei flächige Elektroden gebracht wird, von denen mindestens eine für elektromagnetische Strahlung durchlässig ist.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet,

zeichnet, daß das Lösungsmittel durch das poröse Material abgesaugt wird.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß als poröses Trägermaterial eine Kernspurmembran verwendet wird.

4. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das strahlungsempfindliche biologische Material nach Entzug des Lösungsmittels in einen Flüssigkristall eingebracht und daß dieses Präparat anschließend als dünne Schicht auf die Membran aufgebracht wird.

5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Komponenten des strahlungsempfindlichen biologischen Materials und eines Flüssigkristalls mit der Membran in Kontakt gebracht werden und daß nach Ausbildung des Flüssigkristalls auf der Oberfläche und in den Poren der Membran die so entstandene Anordnung zwischen die Elektroden gebracht wird.

6. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß als strahlungsempfindliches biologisches Material Bakteriorhodopsin verwendet wird.

7. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß eine Bakteriorhodopsinlösung in einer Menge von  $1 \text{ mg/cm}^2$  auf eine Kernspurmembran aufgebracht wird, die eine Dicke von  $10 \text{ }\mu\text{m}$ , eine Porengröße von  $200 \text{ nm}$  sowie  $5 \text{ Mio Poren/cm}^2$  aufweist.

8. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die präparierte Membran zur Kontaktierung zwischen zwei Glasplatten gebracht wird, die mit leitfähigem Indium-Zinn-Oxid transparent beschichtet sind.

Hierzu 2 Seite(n) Zeichnungen

- Leerseite -

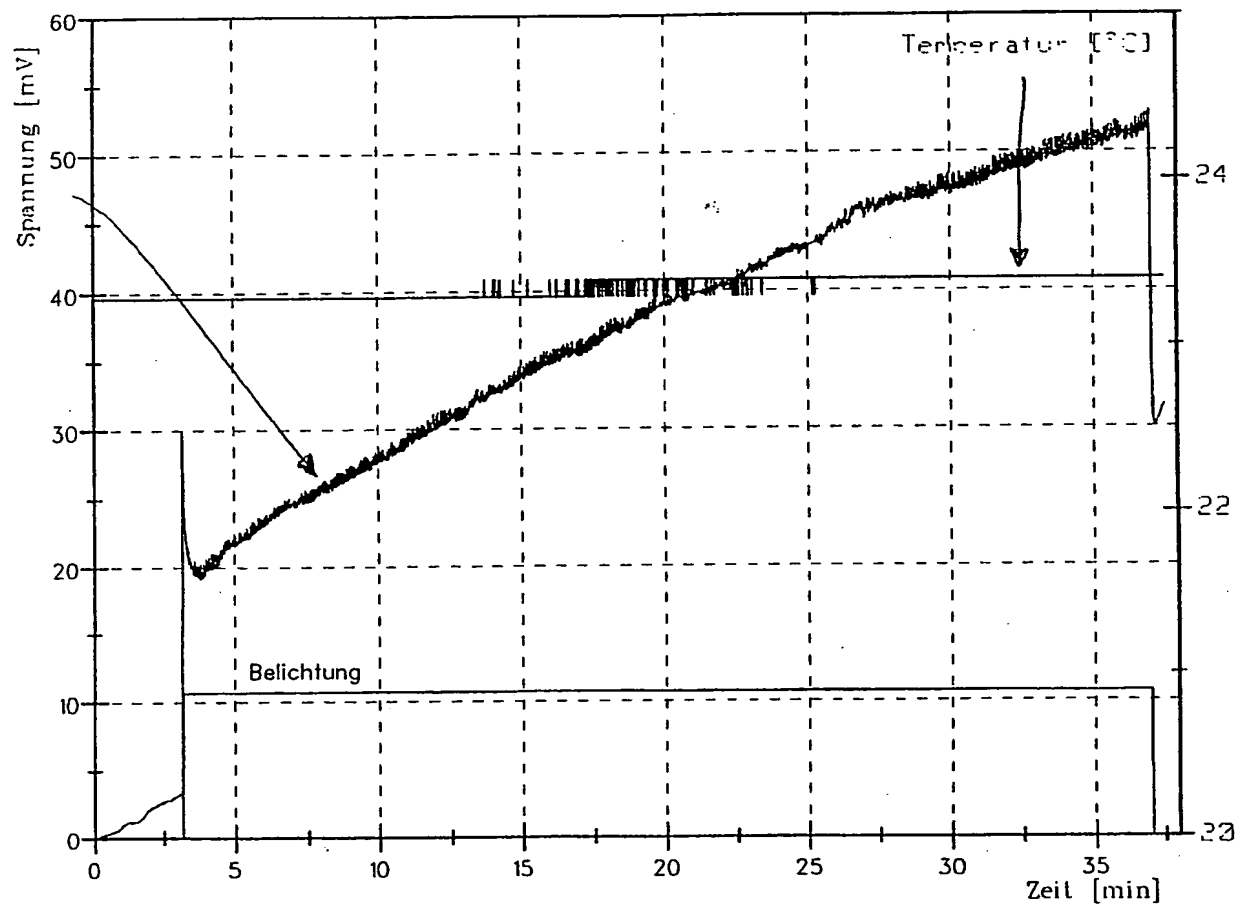


Fig. 1

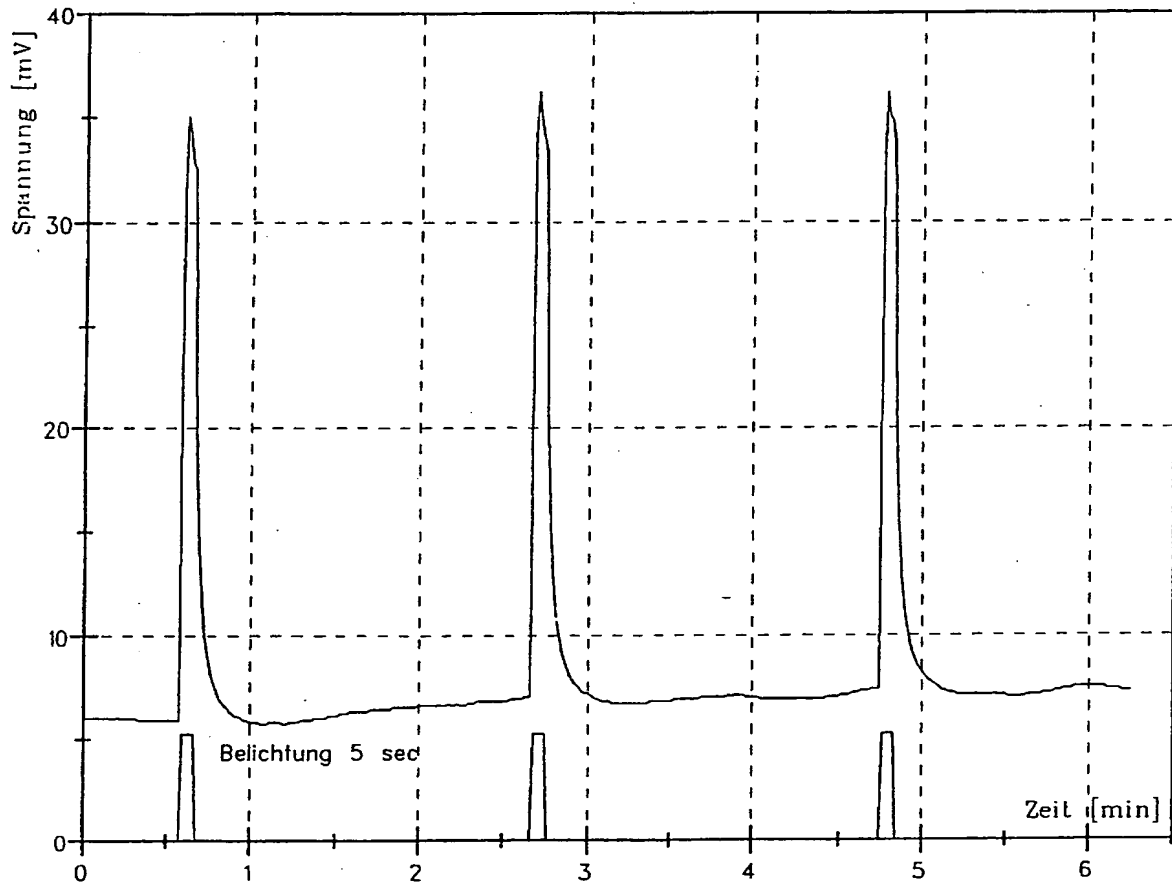


Fig. 2

# EUROPEAN PATENT OFFICE

## Patent Abstracts of Japan

PUBLICATION NUMBER : 62221467  
PUBLICATION DATE : 29-09-87

APPLICATION DATE : 20-03-86  
APPLICATION NUMBER : 61063000

APPLICANT : AGENCY OF IND SCIENCE & TECHNOL;

INVENTOR : TSUDA KEISHIRO;

INT.CL. : B05D 1/18 B41M 5/26

TITLE : METHOD FOR PREPARING PURPLE MEMBRANE-CONTAINING MEMBRANE

ABSTRACT : PURPOSE: To efficiently form a highly homogenous membrane layer, by treating the surface of a substrate with a coupling agent and forming a purple membrane-containing membrane layer due to the polymerization of acrylamide to the treated surface.

CONSTITUTION: A purple membrane is the one isolated from Halobacterium halobium being one kind of halophil and contains bacteriorhodopsin being chromoprotein and is dissolved in an aqueous solution containing 5~15wt% of acrylamide to obtain a desired acrylamide solution. A substrate such as a glass substrate, an ITO electrode substrate or a metal plate is treated with a silane coupling agent and acrylamide is polymerized while the acrylamide solution containing the purple membrane is contacted with the surface of the surface treated substrate to form a homogenous membrane layer of a purple membrane-containing acrylamide gel.

COPYRIGHT: (C)1987,JPO&Japio